

養殖サケ・マス類中のカロテノイド系色素及び酸化防止剤の分析

鈴木敬子*, 貞升友紀*, 平田恵子*², 嶋村保洋*³, 船山恵市*³,
小川仁志*, 伊藤弘一*, 石本琢磨*⁴, 道端伸行*⁵

Analysis of Carotenoids and Antioxidants in Farmed Salmons

Keiko SUZUKI*, Yuki SADAMASU*, Keiko HIRATA*², Yasuhiro SHIMAMURA*³, Keiichi FUNAYAMA*³,
Hitoshi OGAWA*, Kouichi ITO*, Takuma ISHIMOTO*⁴ and Nobuyuki MICHIHATA*⁵

Keywords : カンタキサンチン canthaxanthin, アスタキサンチン astaxanthin, 養殖サケ・マス類 farmed salmons,
カロテノイド系色素 carotenoids, 酸化防止剤 antioxidants

はじめに

サケ・マス類の紅色は主にカロテノイド系色素のアスタキサンチンで、カンタキサンチンも微量存在している。天然のサケ・マス類は、これらの色素を主にその食餌の藻類から獲得して、魚肉の紅色を保っている。そのため、養殖サケ・マス類については、飼料にアスタキサンチン及びカンタキサンチンを添加して魚肉の着色を補っている。その添加量は農林水産省令に定められており、飼料1トン中アスタキサンチン100g以下、カンタキサンチン80g以下とされている。アスタキサンチンは、既存添加物名簿第372号ヘマトコッカス藻類の主成分で、食品の着色料として認められている。また、日焼け防止等を目的としたいわゆる健康食品やサプリメントにも使用されており、特に問題は提起されていない。一方、カンタキサンチンは、視野狭窄を引き起こすとして問題となり、EUは平成15年12月、飼料への添加基準を25mg/kgに切り下げた。厚生労働省は食品安全委員会へ食品健康影響評価を依頼し、1日摂取許容量(ADI)を0.025mg/kg体重/dayとする報告を受け、平成16年11月に畜水産食品に係わる残留基準値を9品目について設定し、さけ科魚類は20ppmとした。しかし、市販されているサケ・マス類中のカンタキサンチンの残存量の報告は少なく、その実態は明らかではない。

また、魚介冷凍品は、油焼け防止のため酸化防止剤を含む浸漬液で処理することが知られている。酸化防止剤のブチルヒドロキシアニソール(以下BHAと略す)、ジブチルヒドロキシルエン(以下BHTと略す)は浸漬液に1.0g/kgの使用が認められている。また、アスコルビン酸、エリソルビン酸は酸化防止を目的とした場合の量的使用基準は無く、BHA、BHT、カテキン類等と併用するとその酸

化防止効果を向上させると言われている。しかし、市販されている魚介冷凍品について、酸化防止剤に関する報告はほとんど見られない。

今回、筆者らは、市販されている冷凍の養殖サケ・マス類を入手する機会を得たので、これらのカロテノイド系色素の含有量を知るために、アスタキサンチン、カンタキサンチン及び総カロテノイド量を分析した。さらに、浸漬液中の添加物の影響を調べるために、酸化防止剤のBHA、BHT、アスコルビン酸、エリソルビン酸及び二酸化硫黄についても分析したので、その結果も併せて報告する。

実験方法

1. 試料

平成16年7~9月に市販された冷凍養殖サケ・マス類27検体、冷凍天然サケ3検体及び養殖用飼料4検体を試料とした。これらの内訳を表1に示した。

表1. 試料の内訳

種類	原産国							計
	丹	ノル	ア	イ	米	ニュ	日	
養殖								
サーモントラウト	4	4	2					10
アトランティックサーモン	2	4		1				7
銀さけ	4							2
キングサーモン					2	2		4
計	10	8	2	1	2	2	2	27
天然								
紅さけ					2			2
秋さけ(白さけ)							1	1
計					2		1	3
養殖用飼料	2		2					4

* 東京都健康安全研究センター食品化学部食品添加物研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health 3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo, 169-0073 Japan

*² 東京都健康安全研究センター多摩支所理化学研究科

*³ 東京都健康安全研究センター食品化学部食品成分研究科

*⁴ 東京都健康安全研究センター広域監視部食品監視指導課

*⁵ 東京都福祉保健局健康安全室健康安全課

2. 標準品及び試薬

標準品は、アスタキサンチン(SIGMA), カンタキサンチン(関東化学), BHA, BHT, アスコルビン酸及びエリソルビン酸(和光純薬)を使用し, その他の試薬は市販特級品を使用した。

3. 調査項目及び分析方法

1) アスタキサンチン及びカンタキサンチン

(1) TLC 法 抽出は油性色素の操作¹⁾に準じて, 試料 30 g にヘキサン 25 mL 及び 50%メタノール 50 mL を加えてホモジナイズ(8,000 rpm, 5 分間)した後, 遠心分離(3,000 rpm, 15 分間)した。ヘキサン層を分取し, 以下のクリーンアップ操作を行った。あらかじめヘキサン 5 mL で処理したシリカゲルカートリッジ(MEGA BOND ELUT-SI, 1 g/6 mL (VARIAN))に負荷し, ヘキサン 10 mL, ヘキサン・アセトン(9:1) 5 mL で洗浄した後, ヘキサン・アセトン(1:9) 2 mL で溶出して試験溶液とした。

これを薄層板にスポットして, 二種類の展開溶媒を用いて展開した。標準品を展開した薄層クロマトグラムと TLC 条件を図 1 に示した。

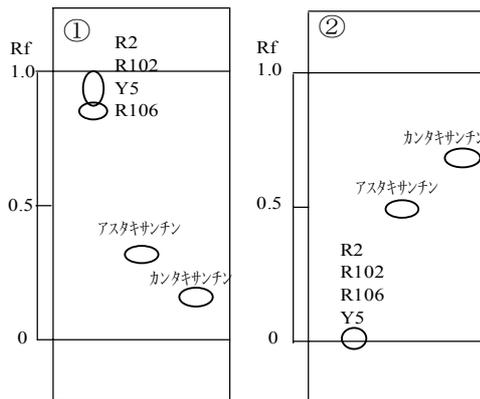


図 1. 薄層クロマトグラム

- ① ODS薄層板: RP-18F254S (MERCK)
展開溶媒: アセトン・メタノール・水 (5:4:1)
② シリカゲル薄層板: HPTLC Silicagel 60 (MERCK)
展開溶媒: 石油エーテル・アセトン (7:3)

(2) HPLC 法 試料 5 g を 50 mL 遠心管に秤取し, アセトンを加えて 50 mL とし, 30 分間超音波抽出後, 遠心分離(3,000 rpm, 15 分間)した。その上清を分取し, これをフィルター(0.45 μ m)でろ過して HPLC 用試験溶液とした。移動相はアセトン・水(4:1), 測定はフォトダイオード検出器を用いて行い, ピークの吸収スペクトルを確認した。また, 定量は, 主ピークの面積値で行った。

HPLC クロマトグラムと, 標準溶液についてピークの吸収スペクトルを図 2 に示した。

2) 総カロテノイド量 上記 HPLC 法で調製した試験溶液を用いて 480 nm の吸光度を測定し, アスタキサンチンのアセトン溶液の吸光係数 $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 2,200$ として総カロテノイド量を算出した²⁾。また, 結果はカンタキサンチンの残留基準値と比較するため ppm で示した。

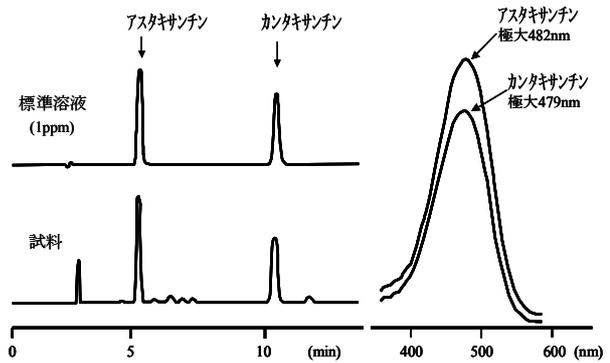


図 2. HPLCクロマトグラム及びPDAスペクトル
カラム: COSMOSIL 5C18-AR
(4.6 mm i.d.×250 mm)

移動相: アセトン・水 (4:1)
流速: 1 mL/min
カラム温度: 40℃
検出波長: 480 nm

3) 酸化防止剤 BHA, BHT, アスコルビン酸及びエリソルビン酸は食品衛生検査指針³⁾, 二酸化硫黄は衛生試験法⁴⁾に準じて分析した。また, 結果は食品添加物の使用基準と比較するため g/kg で示した。

結果及び考察

1. 分析方法

1) TLC 法 試験溶液の調製において, ヘキサン抽出液は脂肪等不純物の妨害により, これを直接薄層板にスポットできなかった。そこで, シリカゲルカートリッジによるクリーンアップ操作を行ったところ, 妨害物を除去できた。展開溶媒は二種類検討したが, 両方とも分離良く確認できた。検出限界は 0.02 μ g (20 ppm 溶液を 1 μ L スポット)であった。

2) HPLC 法 HPLC 条件は佐藤ら⁵⁾のグラジェントによる分析法を参考にして, アイソクラティックでの条件を検討した。移動相をアセトン・水(4:1)とした時, アスタキサンチンは約 6 分, カンタキサンチンは約 11 分に妨害も無く検出でき, 検出限界は 0.1 ppm であった。試料にアスタキサンチン及びカンタキサンチンを各 0.1, 1, 10 ppm 添加した時の回収率は, 表 2 に示すように良好であった。

表 2. HPLC法における回収率 (%)

添加量(ppm)	アスタキサンチン	カンタキサンチン
0.1	101.2±3.2	99.8±1.8
1.0	99.4±2.0	95.9±3.5
10.0	92.6±1.4	93.1±1.1

(n=3, 平均値±標準偏差 (%))

2. 分析結果

分析結果の一覧を表 3 に示し, 各調査項目について考察をした。

1) カロテノイド系色素 アスタキサンチンは全ての試

表3. カロテノイド系色素及び酸化防止剤の分析結果

種類	原産国	アスタキサンチン* (ppm)	カンタキサンチン* (ppm)	総カロテノイド量* ² (ppm)	ASA* ³ (g/kg)	ERA* ³ (g/kg)	BHA* ⁴ (g/kg)	BHT* ⁴ (g/kg)	
養殖	サーモトラウト	チリ	15.7	n.d.	23	0.04	n.d.	n.d.	0.008
		デンマーク	12.4	n.d.	19	0.02	n.d.	n.d.	n.d.
		ノルウェイ	12.3	n.d.	16	0.02	n.d.	n.d.	n.d.
		チリ	11.5	n.d.	18	0.04	n.d.	n.d.	0.007
		ノルウェイ	11.1	n.d.	18	0.03	n.d.	n.d.	0.009
		チリ	10.9	n.d.	16	0.03	n.d.	n.d.	n.d.
		チリ	9.6	n.d.	13	0.07	n.d.	n.d.	0.007
		デンマーク	8.7	n.d.	13	0.02	n.d.	n.d.	n.d.
		ノルウェイ	8.0	n.d.	15	0.03	n.d.	n.d.	n.d.
		ノルウェイ	7.8	n.d.	13	0.03	n.d.	n.d.	n.d.
アトランティックサーモン	ノルウェイ	6.2	n.d.	9	0.03	n.d.	n.d.	0.010	
	ノルウェイ	5.8	n.d.	10	0.01	n.d.	n.d.	0.007	
	ノルウェイ	5.0	4.1	10	0.02	n.d.	n.d.	0.010	
	イギリス	4.6	2.7	9	0.02	n.d.	n.d.	0.008	
	ノルウェイ	4.5	n.d.	8	0.02	n.d.	n.d.	0.007	
	チリ	4.1	n.d.	7	0.03	n.d.	n.d.	0.040	
	チリ	4.0	n.d.	6	0.03	n.d.	n.d.	0.020	
銀さけ	日本	14.0	n.d.	19	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	
	チリ	13.8	n.d.	15	0.02	n.d.	n.d.	n.d.	
	チリ	12.1	n.d.	18	0.03	n.d.	n.d.	n.d.	
	チリ	11.1	n.d.	17	0.03	n.d.	n.d.	n.d.	
	チリ	9.9	n.d.	15	0.03	n.d.	n.d.	n.d.	
	日本	7.4	1.3	15	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	
キングサーモン	ニュージーランド*	8.8	n.d.	13	0.03	n.d.	n.d.	n.d.	
	カナダ*	6.8	8.3	18	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	
	ニュージーランド*	6.1	n.d.	13	0.02	n.d.	n.d.	n.d.	
	カナダ*	4.0	3.5	11	0.04	n.d.	n.d.	n.d.	
天然	紅さけ	アメリカ	30.3	n.d.	32	0.02	n.d.	n.d.	n.d.
		アメリカ	29.7	n.d.	41	0.02	n.d.	n.d.	n.d.
	秋さけ (白さけ)	日本	5.5	n.d.	8	0.01	n.d.	n.d.	n.d.
養殖用飼料	淡水用	チリ	50.3	n.d.	76	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	海水用	チリ	48.4	n.d.	72	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	7~8ヶ月齢用	デンマーク	2.8	n.d.	9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	5~6ヶ月齢用	デンマーク	1.1	n.d.	9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

* 検出限界値 0.1 ppm

*2 検出限界値 1 ppm

*3 ASA : アスコルビン酸, ERA : エリソルビン酸 ; 検出限界値 0.01 g/kg

*4 BHA : ブチルヒドロキシアニソール, BHT : ジブチルヒドロキシトルエン ; 検出限界値 0.005 g/kg

料から検出され、その含有量は、養殖で 4.0~15.7 ppm、天然で 5.5~30.3 ppm、養殖用飼料では 1.1~50.3 ppm であった。カンタキサンチンは養殖 5 検体から検出されたが、その含有量は 1.3~8.3 ppm で、全て残留基準値以下であった。総カロテノイド量は、サケ・マス類については、魚種間で差が認められた。特に赤みの強い紅さけは 32 ppm 及び 41 ppm と多く、サーモントラウト・銀さけ・キングサーモンでは 10~20 ppm、色のうすいアトランティックサーモンや白さけでは 10 ppm 以下であるなど、魚肉の色の濃さと比例していた。また、アスタキサンチンとカンタキサンチンの含有量の和以上の値を示しており、これら以外のカロテノイド系色素が含有されていることが推測された。

天然サケ・マス類中の総カロテノイド量の報告⁶⁾では紅さけ約 30 ppm、銀さけ・キングサーモン約 10 ppm、さけ（白さけ）約 5 ppm とある。また、養殖サケ・マス類では、飼料により摂取するカロテノイド系色素の量を調節して、魚肉の色を天然ものに近くなるようにして、その商品価値を高めている。今回の結果からも、市販養殖サケ・マス類の色が天然のものに近いことが確認できた。

2) 酸化防止剤 検出された酸化防止剤を魚種別にまとめた結果を表 4 に示した。BHT は、アトランティックサーモン 7 検体から 0.007~0.040 g/kg、サーモントラウト 4 検体から 0.007~0.009 g/kg 検出された。食品成分表⁷⁾によると可食部 100 g 当りの脂質量はアトランティックサーモン約 16 g、サーモントラウト約 14 g で、銀さけ等と比較して脂質量が多いことが認められた。BHT は脂溶性であることから、脂質の多い魚種に浸漬液からの移行・残存が、多くなることが推測された。

アスコルビン酸は、サケ・マス類の全検体から検出され、大部分は 0.04 g/kg 以下で、1 検体だけ 0.07 g/kg と多かった。また、養殖用飼料からは検出されなかった。サケ・マス類のビタミン C 含量は 0.01~0.02 g/kg あり⁷⁾、これに近い値のものは天然由来とも考えられる。今回は浸漬液使用の有無を調査できなかったため、アスコルビン酸については、浸漬液からの移行の影響を確認することはできなかった。

BHA、エリソルビン酸及び二酸化硫黄は、いずれの試料からも検出されなかった。

表 4. 検出された酸化防止剤

種類	検体数	BHT(g/kg)	アスコルビン酸(g/kg)
養殖			
サーモントラウト	10	0.007~0.009 (4)	0.02~0.07 (10)
アトランティックサーモン	7	0.007~0.040 (7)	0.01~0.03 (7)
銀さけ	6	n.d.	0.01~0.03 (6)
キングサーモン	4	n.d.	0.01~0.04 (4)
天然			
紅さけ	2	n.d.	0.02 (2)
秋さけ(白さけ)	1	n.d.	0.01 (1)

(): 検出検体数, n.d. : <0.005 g/kg

ま と め

平成 16 年 7~9 月に東京都内で入手した養殖サケ・マス類 27 検体、天然サケ・マス類 3 検体及び養殖用飼料 4 検体について、アスタキサンチン、カンタキサンチン、総カロテノイド量及び酸化防止剤の分析を行った。

アスタキサンチン及びカンタキサンチンは TLC と HPLC で分析した。TLC は、抽出液をシリカゲルカートリッジでクリーンアップをすることにより試料中の不純物が除去され、二種類の展開溶媒で分離良く確認することができた。検出限界は 0.02 µg であった。HPLC は、移動相の溶媒比率について検討した。アセトン・水 (4:1) の時、アスタキサンチンは約 6 分、カンタキサンチンは約 11 分に妨害なく検出することができた。検出限界は 0.1 ppm であった。各々 0.1, 1, 10 ppm 添加した時の回収率は 90%以上であった。

アスタキサンチンは全ての検体から検出され、その含有量は養殖 4.0~15.7 ppm、天然 5.5~30.3 ppm、養殖用飼料 1.1~50.3 ppm であった。カンタキサンチンは養殖の 5 検体から検出され、その含有量は 1.3~8.3 ppm で、全て残留基準値以下であった。総カロテノイド量は養殖 6~23 ppm、天然 8~41 ppm、養殖用飼料 9~76 ppm であった。サケ・マス類については、これらの値は魚肉の色の濃さに比例していた。

酸化防止剤の BHT はサーモントラウト 4 検体、アトランティックサーモン 7 検体から検出された。これらは脂肪含量の多い魚種であり、BHT を使用した浸漬液からの移行・残存が多くなることが推測された。アスコルビン酸はサケ・マス類の全検体から検出されたが、1 検体だけ 0.07 g/kg と多かった。BHA、エリソルビン酸及び二酸化硫黄は全て検出されなかった。

(本調査の概要は(社)日本食品衛生学会第 90 回学術講演会平成 17 年 10 月及び第 42 回全国衛生化学技術協議会年会平成 17 年 11 月で発表した。)

文 献

- 1) 日本薬学会：衛生試験法・注解，348-380，2005，金原出版，東京。
- 2) 佃 信夫：水産生物化学・食品学実験書，103-104，1974，恒星社厚生閣，東京。
- 3) 厚生労働省監修：食品衛生検査指針食品添加物編，46-52，2003，日本食品衛生協会，東京。
- 4) 日本薬学会：衛生試験法・注解，185-186，1973，金原出版，東京。
- 5) 佐藤恭子：食衛誌，39(6)，368-374，1998。
- 6) 山口勝己：カロテノイド，鴻巣章二，橋本周久編，水産利用化学，145-149，1992，恒星社厚生閣，東京。
- 7) 科学技術庁資源調査会：五訂日本食品成分表，176-179，2000，大蔵省印刷局，東京。